第 38 卷 第 3 期 昆虫学报 Vol. 38, No. 3
1995 年 8 月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA Aug., 1995

昆虫分子生物学的一些进展：神经递质和离子通道

翟启慧
(中国科学院动物研究所 北京 100080)

1 神经递质

神经递质 (neurotransmitter) 是在化学突触神经元之间传递信息的化学物质。神经递质有许多不同类型，如乙酰胆碱、γ-氨基丁酸、生物胺等。在昆虫中研究与神经递质的代谢和功能有关的基因，对于全面深入了解昆虫神经系统的功能是十分重要的。

1.1 胆碱能系统 (cholinergic system)

在胆碱能突触，由胆碱乙酰转移酶 (ChAT) 催化，从胆碱和乙酰一辅酶 A 合成乙酰胆碱 (Ach)——昆虫中枢神经系统的主要神经递质。Ach 短暂地与特异受体结合，导致膜通透性改变。Ach 最后被乙酰胆碱酯酶 (AchE) 水解失活。在昆虫中，ChAT、AchE、及 Ach 受体均已在分子水平有不同程度的研究。

1.1.1 ChAT 在昆虫神经节中 ChAT 的活性要比脊椎动物中高 100 倍。从果蝇 *Drosophila melanogaster* 头部纯化的 ChAT 是一个单体的球蛋白，分子量约 67kD, 来自一个 75kD 的前体。Itoh 等[1]克隆了果蝇 ChAT 的 cDNA, 并进行了序列分析。该 cDNA 在 5′ 和 3′ 末端均不完整，但包含全部编码序列。从不完全的 cDNA 合成的 RNA 能在体外有效地转译有活性的 ChAT。起始密码子是罕见的 GTG。以后又鉴定了全长的 cDNA, 并分离了基因的全部外显子，研究了基因的组织结构。然而，从全长 cDNA 转录的 RNA, 其转译效率反而较低。这些结果表明转译水平的调控可能在果蝇 ChAT 的表达中起重要的调节作用[2,3] ChAT 的单个基因 (*cha*) 位于第 3 染色体的右臂。

1.1.2 AchE 在昆虫神经组织中，AchE 的活性很高。昆虫 AchE 主要是结合在膜上的球形二聚体 (150kD)。在果蝇中，AchE 的单体是来自同一前体的两个不同多肽，分子量分别为 55kD 和 16kD。前体 (70kDa) 由 AchE 基因 (*Ace* 位点) 编码[4]。AchE 基因也位于第 3 染色体右臂，与上述 ChAT 基因位于相同的区段。

Hall 等[5]对果蝇的 AchE 基因进行了初步分析。Fournier 等[6]测定了该基因的全部组织结构。其转录单元是 34kb 长，分隔成 10 个外显子。所有内含子/外显子的交界均进行了准确定位和序列分析，推导出成熟转录物的全部结构，并测定了启动子区的序列。与脊椎动物的 AchE 基因相比，果蝇 AchE 基因的编码序列更为分隔，但两者的最后两个外显子的剪接部位是完全保守的。此外，在一种突变果蝇中，证明了对 AchE 活

本文于 1994 年 5 月收到。

性和组织分布的影响是由于 AchE 基因有小片段缺失，使启动子区和第一个非编码外显子被除去了[6]。

Hoffmann 等[7]构建了一个只有 5.8kb 长的 AchE 小基因，由转录起始点上游的启动子序列与没有内含子的编码序列连接组成。将此小基因注射至果蝇的一种致死突变的胚胎中，进行种系转化，可使突变果蝇免于死亡。这种方法可用来在活体中研究 AchE 与杀虫剂抗性之间的结构功能关系。

按蚊 *Anopheles stephensi* 的 AchE 基因在染色体上有两个位点，分别在第 2 染色体右臂和第 3 染色体左臂。*A. stephensi* 的 AchE 基因也包含 10 个编码外显子，外显子/内含子的交界也与果蝇中符合，但基因组织紧凑，全长仅 3kb。*A. stephensi* 和果蝇的 AchE 基因具有相当高度的相似性，从推导出的 AchE 的氨基酸序列来看，两者有 70% 是相同的，活性部位是完全保守的[8]。

最近从另一种按蚊 *A. albimanus* 中克隆了 AchE 基因，并分析了全部序列。与 *A. stephensi* 的 AchE 基因相比，编码区的序列大部分是保守的，但内含子的序列很不相同[9]。同时从尖音库蚊 *Culexpipiens* 中也分离了 AchE 基因，并进行了序列分析[9]。

AchE 是有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂的靶部位。有关这方面的问题将另文介绍。

1.1.3 乙酰胆碱受体（AchR） AchR 在胆碱能突触的重要性在于识别和转导化学信号 Ach。AchR 因作用方式和药理学的不同而分为两类：烟碱类受体（nicotinic receptor、nAchR）及蕈毒类受体（muscarinic receptor, mAchR）。烟碱类化合物和蕈毒类化合物可作为配体分别与 nAchR 和 mAchR 结合，从而模拟 Ach 的作用。这两类化合物是胆碱能系统的拮抗物，可用来分析鉴定这两种受体。mAchR 的作用方式是与G蛋白(一种与 GTP 结合的调节蛋白)偶联，通过第 2 信使系统起作用。nAchR 则是组成信号转导的离子通道(参看下文)。在昆虫中，以 nAchR 为主。

(1) mAchR：在果蝇、飞蝗、蜚蠊等昆虫中，mAchR 是分子量约 75—80kD 的多肽。果蝇的 mAchR 与鼠脑 mAchR 的单克隆抗体有很强的交叉反应，表明两种受体的结构相似。Onai 等[10]分离鉴定了果蝇 mAchR 的 cDNA 克隆，进行了序列分析。证明果蝇 mAchR 的一级结构有 60%—70% 与哺乳动物的相同。果蝇的 mAchR 基因位于第 2 染色体右臂端部，与上述两种酶的基因不在同一染色体上。

近年从果蝇分离了一个 mAchR 基因，用两种表达系统 cos-7 细胞株及非洲爪蛙卵母细胞观察基因表达。结果表明该 mAchR 在药理学方面与脊椎动物 M_3 亚型 mAchR 极为相似。用免疫细胞学手段确定了该基因产物在果蝇神经系统中的位置，发现这种 mAchR 的功能可能与感觉加工有关[11]。

(2) nAchR：昆虫的 nAchR 是一种寡聚蛋白。根据免疫交叉反应和 N-末端序列，昆虫 nAchR 与脊椎动物的受体有相当程度的结构相似性。在脊椎动物神经系统中，nAchR 由数个 α 亚单位和 β 亚单位组成。α 亚单位的功能是与配体 Ach 结合，β 亚单位是结构的功能。

从果蝇中分离了一个 nAchR 的基因家族，其成员编码果蝇 nAchR 的 5 个不同的亚单位[12-20]。总结于表 1。

目前还不清楚，这些亚单位之间的关系如何，它们如何组成寡聚体，此外，是否还有更

表1 果蝇 nAchR 基因

基因	亚单位	全 称	功 能	染色体位置	基因大小	mRNA 大小	氨基酸数目
als	ALS	α-like subunit	配体结合	3R	54kb	10kb	546
sad 或 *dα2*	SAD Dα2	second α-like subunit of *Drosophila* *Drosophila* α-like subunit 2	配体结合	3R	5kb	2—3kb	535
dα3	Dα3	*Drosophila* α-like subunit 3	配体结合				
ard	ARD	nAchR from *Drosophila*	结构	3L	8kb	2—3kb	497
sbd	SBD	second β-subunit from *Drosophila*	结构	3R		2—3kb	493

多的亚单位。尽管如此，5 个基因的鉴定表明果蝇 nAchR 的复杂性，可能与脊椎动物中一样存在不同亚型。

在沙蝗 *Schistocerca gregaria* 中，分离鉴定了 nAchR 的 α 亚单位（αL1）的 cDNA。用体外转录的 mRNA 在非洲爪蛙卵母细胞中进行表达，形成有功能的 nAchR[21-23]。看来这一亚单位能够自身组合成一个同型寡聚物。根据氨基酸序列比较和拮抗物的不同反应判断，沙蝗的 αL1 并不是果蝇 ALS 的对应物。在沙蝗中也分离了一个非 α 亚单位，可能是果蝇 β 亚单位 ARD 的对应物，两者在氨基酸水平上有 89% 的相同性。此外，在沙蝗中还可能存在相当于果蝇 ALS 的亚单位。这些结果表明在沙蝗神经系统中也有一个 nAchR 的基因家族[21-23]。

在飞蝗中初步鉴定的 nAchR 基因达 8 个之多，其中 6 个（4 个似 α 单位，2 个非 α 亚单位）已经进行了不同程度的克隆和序列分析[14]。

最近 Sgard 等[24]从 6 目 10 种昆虫中分离出 nAchR α 亚单位基因片段。它们编码的 α 亚单位具有配体结合和离子通道形成的功能。它们虽然来自关系甚远的不同昆虫，但每一个均与果蝇的 ALS 或 SAD 相似，保守性 > 85%。这表明 nAchR 的这二个 α 亚单位基因广泛存在于昆虫中。

1.2 γ-氨基丁酸（GABA）

GABA 是一种主要的抑制性神经递质。它的合成由谷氨酸脱羧酶（GAD）控制。在分子水平上对昆虫 GAD 进行研究，对于了解 GABA 合成的调节及 GABA 能神经元的发育、分布和功能均有重要意义。Jackson 等[25]分离了果蝇 GAD 的 cDNA，证明其基因编码具有酶活性的 GAD 蛋白。由果蝇 GAD 的 cDNA 推导出 GAD 的氨基酸序列，与哺乳动物 GAD 的序列比较，有两个高度保守的区段，包含着重要的功能区。GAD 基因有两类不同的转录物。其一从胚胎期到成虫期持续表达。另一类的表达受发育期调节，仅在胚胎期和蛹期表达。

GABA 的受体与离子通道相连。当 GABA 与受体结合，离子通道被打开，选择性地让 Cl^- 通过，但阳离子不能透过（参看下文）。脊椎动物中枢神经系统的 GABA 受体，按其分布与作用的不同而分为 $GABA_A$ 和 $GABA_B$ 两个亚型，并且至少由 5 种不同的亚单

位（α、β、γ、……）组成。

昆虫的 GABA 受体存在于神经元和肌肉细胞中，是一些杀虫剂的靶部位。至今已研究过的昆虫 GABA 受体大多控制对苦毒素（picrotoxinin）敏感的 Cl^- 通道。虽然这类受体与脊椎动物中枢神经系统中 $GABA_A$ 型的药理性质相近，但也还有重要差别。最近，Sattelle 等[26]证明在昆虫运动神经元中存在 $GABA_A$ 型和 $GABA_B$ 型受体，而且同一种昆虫中，神经元的和肌肉的 $GABA_A$ 受体之间还有药理差异，表明昆虫的 GABA 受体的多样性。Henderson 等[27]克隆和分析了果蝇 GABA 受体的 β 亚单位，证明在果蝇中存在着一个 GABA 受体亚单位的家族。

此外，Soderlund 等[28]通过聚合酶连锁反应（PCR），用脊椎动物 GABA 受体基因中的保守区作为探针，从果蝇中筛选出三个扩增的序列单元 LCCH1、LCCH2、LCCH3。它们包括可译框架，并与脊椎动物中配体控制的 Cl^- 通道基因的相应区段的氨基酸序列有 > 40% 相同性。分析结果表明 LCCH1 与 *Rdl* 基因(果蝇的环二烯抗性基因，它编码一种 GABA 受体亚单位）相同。而 LCCH2 和 LCCH3 是新的序列，与配体控制的 Cl^- 通道基因家族的其它成员在结构上相似。LCCH2 可能代表这个家族中的一类新的亚单位或受体。LCCH3 则是 GABA 受体 β 亚单位的成员，是果蝇中一个新的配体控制的 Cl^- 通道基因。这些结果，与上述结果一样[26,27]，证明果蝇中存在着一个 GABA 受体的多样化基因家族，与脊椎动物的配体控制的 Cl^- 通道基因家族在结构上有关[27,28]。

1.3 生物胺（biogenic amines）

生物胺如多巴胺、5-羟色胺、章鱼胺、酪胺等在无脊椎动物中具有神经递质、神经激素或神经调节素的作用。生物胺的受体属于与三磷酸鸟苷结合蛋白(G 蛋白)相互作用的跨膜蛋白族。受体与各种G蛋白的相互作用导致不同的第二信使途径(包括受体、G蛋白和效应物)的活化。在昆虫中，为了进一步阐明生物胺受体的功能，近年已开始在分子水平进行研究。因篇幅有限，以下仅介绍有关 5-羟色胺的研究。

5-羟色胺（serotonin，5HT）对许多生理机制起作用。在昆虫中，它与学习、唾腺分泌、控制昼夜节律等过程有关。一种神经递质具有调节多种效应的能力，说明存在不同类型的受体与信号转导途径相偶联。Witz 等[29]和 Saudou 等[30]从果蝇中分离出编码三个不同的 5HT 受体的基因。这三个受体（5HT-drol、5HT-dro 2A、5HT-dro 2B）在哺乳动物细胞中表达时，活化不同的细胞内效应系统。5HT-drol 受体激活腺苷环化酶，5HT-dro 2A 和 2B 受体则抑制腺苷环化酶而活化磷酸脂酶 C。原位杂交显示三个受体在中枢神经系统的不同部分表达。上述结果表明果蝇中存在不同类型的 5HT 受体。其效应系统的多样性也许能解释 5HT 如何能引起充分协调的行为顺序。

2 离子通道

在昆虫中，像在高等动物中一样，细胞膜上有通道蛋白，它们形成跨膜的充满水的小孔，称为离子通道（ion channel）。离子通道使 Na^+、K^+、Ca^{2+} 或 Cl^- 顺电化学梯度扩散，通过双分子脂膜。这些离子通道是受控的，仅在有特异"信号"时瞬间开放，例如膜电位的改变或神经递质的结合。因此，离子通道分为电压控制(或电压敏感)的通道和配体或递质控制的通道。图 1 表示两种离子通道的作用。

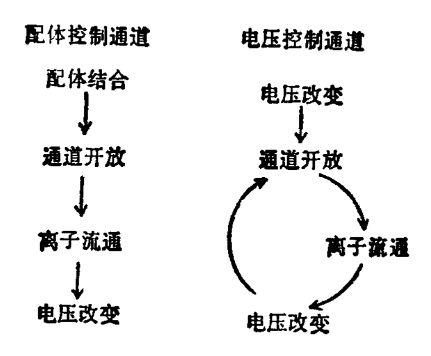


图 1　两种离子通道的作用

前面谈过的 Ach 受体和 GABA 受体都是配体控制的离子通道，其功能是将化学信号转变为电信号。当 Ach 与其受体结合时，阳离子通道开放，Na^+、K^+、Ca^{2+} 都可以通过，产生兴奋性突触后电位。当 GABA 与其受体结合时，阴离子通道开放，Cl^- 通过，产生抑制性突触后电位。

电压控制的离子通道在可兴奋细胞的膜电位——动作电位的产生和传播中起关键作用。当可兴奋的膜受刺激而去极化时，Na^+ 通道开放，调节 Na^+ 的快速流入，产生动作电位。之后，Na^+ 通道很快关闭，K^+ 通道随之开放，K^+ 流出，使细胞再极化而恢复静止电位。因此，Na^+、K^+ 通道的主要作用在于控制神经和肌肉的兴奋性。了解它们的结构与功能是神经生物学的主要目标之一。以下介绍近年来对 Na^+、K^+ 通道的分子特征的研究。

2.1　钠离子通道

脊椎动物离子通道基因克隆的研究表明，各种离子通道具有一些共同的结构特点。Na^+ 通道蛋白包括 4 个相似的多肽，称为相似区。每一相似区由 6 个跨膜结构 S1—S6 组成，居中的 S4 带正电荷，作为膜电位的“传感器”。

近年来人们对昆虫 Na^+ 通道感兴趣，因为 Na^+ 通道是两类重要杀虫剂拟除虫菊酯和 DDT 的作用部位，并且 Na^+ 通道的结构变异与昆虫对杀虫剂的抗性有关。这方面的问题将在另一篇中专门介绍。

果蝇 Na^+ 通道的结构基因已从两种不同的途径进行了研究。一是推测果蝇的 Na^+ 通道基因的序列与脊椎动物有一定的保守性，因此利用脊椎动物的 Na^+ 通道基因作为探针，筛选果蝇的基因文库。另一种途径是根据影响 Na^+ 通道功能的突变而鉴定有关基因。

Salkoff 等[31]用鳗鱼的 Na^+ 通道 cDNA 作为探针，从果蝇中筛选出一个 Na^+ 通道基因，进行了部分鉴定，并研究了 Na^+ 通道的结构进化。从推导的氨基酸序列来看，果蝇的 Na^+ 通道的组织结构与脊椎动物的基本上相似，由 4 个相似区组成，4 个相似区包括全部的跨膜结构，具有很高的保守性。相似区之间由细胞质的接头相连，各段接头长短不同，保守性很低。Na^+ 通道基因位于第 2 染色体右臂，编码 4 个相似区的序列有 10 个内含子，它们在相似区中的位置是保守的。4 个相似区的序列有彼此特异的部分，但与脊

椎动物之间是绝对保守的。这表明离子通道蛋白的进化发生于 6 亿年之前，在脊椎动物和无脊椎动物分支之前。

用鼠脑 Na^+ 通道 cDNA 为探针，从果蝇中筛选出两个不同的 Na^+ 通道基因[32]。其中一个位于第 2 染色体，与上述 Salkoff 等[31]所报道的 Na^+ 通道基因相同。另一个位于 X 染色体，可能相当于 *para* 基因（*para* 基因的突变影响果蝇神经元的膜兴奋性[33]，并参看下文）。这两个基因均编码 Na^+ 通道蛋白，表示果蝇 Na^+ 通道基因具有多样性。从这两个 Na^+ 通道基因的结构判定它们在进化中出现很早，在脊椎动物与无脊椎动物分支之前。

从行为的、电生理的、药理的和遗传学的研究，发现果蝇的 *para* 位点的突变改变 Na^+ 通道的结构与功能。因此，Loughney 等[34]克隆了 *para* 位点，对一系列 *para* 突变进行了分子定位，并分离了 *para* cDNA、分析了其序列。通过对 *para* 等位基因 9 个不同的突变损伤定位，发现它们分布于 45kb 的区段内。对 cDNA 的分析揭示 *para* 位点由分布于 ＞ 60kb 的至少 26 个外显子所组成。推导出的蛋白的结构与氨基酸序列与脊椎动物的 Na^+ 通道极为相似。因此可以肯定，*para* 编码果蝇神经元中一种主要的 Na^+ 通道。此外，*para* 的转录产物通过选择性剪接产生 Na^+ 通道的数种不同的亚型。

Knipple 等[35]利用聚合酶连锁反应（PCR）新技术，从家蝇中分离了类似 para 的 Na^+ 通道基因。然后又从代表 4 个目的 7 种昆虫及 1 种蜘蛛中分离了类似 *para* 的 Na^+ 通道基因。DNA 序列分析表明，除少数外，这些种类的 *para* 基因均与果蝇的相似。虽然每一种类的序列有其独特性（有些种类有不止一种序列变异），但存在着完全保守或高度保守的部分[36]。

最近，Pauron 等[37]研究了家蝇 *para* 基因转录物在成虫中的分布，发现 *para* mRNA 位于中枢神经系统的皮层区和眼部。他们还用抗体确定了基因的蛋白产物也分布于脑皮层区和眼部。家蝇的 *para* 蛋白的抗体与果蝇的 *para* 蛋白有交叉反应。家蝇的 *para* 蛋白比果蝇的略小，糖基化程度较低。

2.2　钾离子通道

K^+ 通道是微量的膜蛋白，一直未能被纯化。数年前在既无抗体又无分子探针的情况下，人们从分析果蝇的 *Shaker*（*Sh*）基因入手鉴定了 K^+ 通道，提供了如何从基因入手去鉴定其产物的例子。采取此途径的前提是必须掌握基因的突变体，并已知基因在染色体上的确切位置。

果蝇的 *Sh* 突变体最初被发现是因为在乙醚麻醉后，突变果蝇的腿颤抖。这种突变体的一种 K^+ 电流（称为 A 电流）有变化，表现为动作电位延长，神经末梢释放的神经递质增加。因此有人认为 *Sh* 基因编码一种 A 型的 K^+ 通道——K^+_A 通道[38]。

1987 年学者们开始进行 *Sh* 基因的分子克隆和鉴定[38-40]。已知 *Sh* 基因位于 X 染色体 16F 区。以染色体巡查（chromosome walking）方法克隆 X16F 区的基因组 DNA，并利用 *Sh* 突变的分子定位找出 *Sh* 位点[39,40]。*Sh* 基因有至少 7 个外显子分布于 ＞ 65kb 的范围内[41]。它是一个复合的转录单位，能通过选择性剪接产生很多不同的 mRNA，形成一个 mRNA 家族，它们编码多种不同的蛋白，构成 K^+_A 通道的组成部分。这是离子通道基因经选择性剪接产生一个蛋白的多种变型的第一例。这些蛋白组成 K^+_A 通道的

不同亚型。因此，*Sh* 基因转录物的选择性剪接提供了 K^+ 通道多样性的机理之一[42,43]。

Sh 基因经选择性剪接所产生的 mRNA 编码 2 个不同的蛋白家族。由大多数 mRNA 编码的蛋白形成一个主要的家族，其成员均有 6 个跨膜部分，但 N-和 C-末端各不相同。6 个跨膜部分相当于 Na^+ 通道的跨膜部分 S1—S6，但也有少数成员在 C-末端还有第 7 个跨膜部分。这个蛋白家族的成员是 K^+ 通道的 1/4 组成部分，也就是说 K^+ 通道也像 Na^+ 通道一样是四聚体，由四个亚单位组成。另一族 *Sh* 产物是被截短的蛋白，它们可能并不具有离子通道的功能[44]。

Sh 基因的许多产物中，至少有一部分是真正的 K^+ 通道蛋白，这已经得到了证实。Timpe 等[45]以 *Sh* 的 cDNA 为模板进行体外转录，将所得到的转录产物显微注射到非洲爪蛙卵母细胞。他们发现单纯一种 *Sh* mRNA 足以在卵母细胞膜指导有功能的 K_A^+ 通道的合成，证明 *Sh* 位点编码 K_A^+ 通道；并提示一种类型的亚单位即可形成有功能的同型四聚体通道。当然这并不排除在体内 K_A^+ 通道是异型四聚体的可能性。

Iverson 等[46]也以同样方法证明 *Sh* cDNA 的体外转录产物表达有功能的 K^+ 通道，证实 *Sh* 基因确是 K^+ 通道的结构基因。不同的 *Sh* mRNA 表达的A型 K^+ 电流具有不同的生物物理特性。结构与功能关系的分析表明 *Sh* 多肽的保守的中央区（跨膜部分）决定离子选择性和总的通道行为，而多种多样的 N-和 C-末端则能改变通道的动力学[46,47]。

在缺失 *Sh* 基因的突变果蝇中，仍然有相似于 *Sh* 基因编码的 K^+ 电流。这提示了在果蝇中存在着一个类似 *Sh* 的基因家族。Butler 等[48,49]用 *Sh* cDNA 为探针分离了三个编码 K^+ 通道的新基因 *Shab*、*Shaw*、*Shal*。它们是 *Sh* 基因家族的成员，但在基因组内并不聚集成簇。与 *Sh* 基因一样，这三个基因也均在非洲爪蛙卵母细胞系统中表达 K^+ 电流。每个基因所表达的 K^+ 电流各有不同的生物物理特性。不同基因产物之间的差异要大于 *Sh* 基因选择性剪接所产生的差异。这些结果表明，K^+ 通道的多样性，除由于 *Sh* 基因原始转录物的选择性剪接外，还来源于一个扩大的基因家族。所有 4 个基因的对应物均存在于哺乳动物中，果蝇 K^+ 通道的每个基因，可能是哺乳动物中一个多基因亚族的代表[48,49]。

Klaiber 等[50]用杆状病毒 Sf9 系统大量表达 *Sh* K^+ 通道，获得成功，为纯化有功能的 K^+ 通道蛋白提供了可能性。

在第一个 K^+ 通道结构基因——果蝇 *Sh* 位点被分离后，利用 *Sh* 为探针，从果蝇和其他动物中克隆了不少的 K^+ 通道基因。这种以与果蝇 *Sh* 位点有相似序列为前提的策略，不可能鉴定与 *Sh* 关系较小的其他 K^+ 通道基因。另一条途径是不设想序列的保守性，而是集中分析影响 K^+ 通道功能的突变。因而分离了果蝇的 *eag* 位点[51,52]。

果蝇的 *eag* 位点在X染色体上。电生理和遗传学的证据表明 *eag* 的产物与 K^+ 通道的正常功能有密切关系[51]。用染色体巡查方法克隆了 *eag* 位点，并鉴定了相当于 *eag* 转录物的 cDNA。该 cDNA 编码 K^+ 通道的一个结构成分，它与所有已鉴定的 K^+ 通道多肽相关，但不相同[52]。*eag* 的突变影响所有已鉴定的 K^+ 电流。电生理的研究，加上 DNA 序列分析的结果表明，*eag* 位点编码不同 K^+ 通道所共有的一个亚单位。因此，不同的基因产生的多肽进行组合装配，可能也是造成 K^+ 通道多样性的原因之一[53]。

参 考 文 献

1 Itoh N, Slemmon J R, Hawke, D H, *et al*. Cloning of *Drosophila* choline acetyltransferase cDNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1986, **83**: 4081—85.

2 Sugihara H, Andrisani. V, Salvaterra P M. *Drosophila* choline acetyltransferase uses a non-AUG initiation codon and full length RNA is inefficiently translated. J. Biol. Chem. 1990, **265**: 21714—21719.

3 Sugihara H, *et al*. Genomic organization of *Drosophila* choline acetyltransferase. J. Neurochem. 1991, **57**: 1636—42.

4 Fournier D, Bride J M, Karch F, *et al*. Acetylcholinesterase from *Drosophila melanogaster*. Identification of two subunits encoded by the same gene. FEBS Lett. 1988, **238**: 333—337.

5 Hall L M C, Spierer P. The *Ace* locus of *Drosophila melanogaster*. Structural gene for acetylcholinesterase with an unusual 5′ leader. FMBO J. 1986, **5**: 2949—2954.

6 Fournier D, Karch F, Bride J M, *et al*. *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase gene. Structure, evolution and mutations. J. Mol. Biol. 1989, **210**: 15—22.

7 Hoffmann F, Fournier D, Spierer P. Minigene rescues acetylcholinesterase lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. J. Mol. Biol. 1992, **223**: 17—22.

8 Malcolm C A., Hall M C. Cloning and characterization of a mosquito acetylcholinesterase gene. In: Hagedom, H. H., *et al*. eds Molecular Insect Science, New York: Plenum Press, 1990, 57—65.

9 Edwards C A, Rooker S, Stopps K, *et al*. Acetylcholinesterase gene of the malaria vector *Anopheles albimanus*. In: Abstr. Second Int. Symp. Mol. Insect Sci. 1993, p. 56.

10 Onai T, Fitz Gerald M G, Arakawa S, *et al*. Cloning, sequence analysis and chromosome localization of a *Drosophila* muscarinic acetylcholine receptor. FEBS Lett. 1989, **255**: 219—225.

11 Blake A D, Anthony N M, Chen H H, *et al*. Insect neuronal acetylcholine receptors: transient expression and immunocytochemical localization of a *Drosophila* muscarinic acetylcholine receptor. In: Abstr. Second Int. Symp. Mol. Insect Sci. 1993, 27.

12 Bossy B, Ballivet M, Spierer P. Conservation of neuronal nicotinic acetylcholine receptor from *Drosophila* to vertebrate central nervous system. EMBO J. 1988, **7**: 611—618.

13 Baumann A, Jonas P, Gundelfinger E D. Sequence of Dα2, a novel α-like subunit of *Drosophila* nicotinic acetylcholine receptors. Nucleic Acids Res. 1990, **18**: 3640.

14 Gundelfinger E D, Hess N. Nicotinic acetylcholine receptors of the central nervous system of *Drosophila*. BBA 1992, **1137**: 299—308.

15 Hermans-Borgmeyer I, Zopf D, Ryseek R P, *et al*. Primary structure of a developmentally regulated nicotinic acetylcholine receptor from *Drosophila*. EMBO J. 1986, **5**: 1503—1508.

16 Jonas P, Baumann A, Merz B, *et al*. Structure and developmental expression of the Dα2 gene encoding a novel acetylcholine receptor protein of *Drosophila melanogaster*. FEBS Lett. 1990, **269**: 264—268.

17 Sawruk E, Hermans-Borgmeyer I, Betz H, *et al*. Characterization of an invertebrate nicotinic acetylcholine receptor gene: the *ard* gene of *Drosophila melanogaster*. FEBS Lett. 1988, **235**: 40—46.

18 Sawruk E, Schloss P, Betz H, *et al*. Heterogeneity of *Drosophila* nicotinic acetylcholine receptors. SAD, a novel developmentally regulated α-subunit. EMBO J. 1990, **9**: 2671—77.

19 Sawruk E, Udri C, Betz H, et al. SBD, a novel structural subunit of the *Drosophila* nAchR, shares its genome localization with two α-subunits. FEBS Lett. 1990, **273**: 177—181.

20 Wadsworth S C, Rosenthal L S, Kammermeyer K L, *et al*. Expression of a *Drosophila melanogaster* acetylcholine receptor-related gene in the central nervous system. Mol. Cell. Biol. 1988, **8**: 778—785.

21 Marshall J, Barnard E A, Sattelle D B. The cloning and expression in *Xenopus laevis* oocytes of an insect nicotinic acetylcholine receptor α-subunit. In: Hagedorn, H. H. et al. eds. Molecular Insect Science, New York: Plnum Press, 1990, 67—75.

22 Marshall J, Buckingham S D, Shingai R, *et al*. Sequence and functional expression of a single α-subunit of an insect nicotinic acetycholine receptor. EMBO J. 1990, **9**: 4391—4398.

23 Sattelle D B, Blake A D, Marshall J, *et al*. Molecular cloning and expression of insect nicotinic acetylcholine receptors. In: Abstr. Second Int. Symp. Mol. Insect Sci. 1993, 142.

24 Sgard F, *et al*. ALS and SAD-like nAchR subunit genes are widely distributed in insects. Insect

Mol. Biol. 1993, **2**: 215—223.
25 Jackson F R, Newby I M, Kulkarni S J. *Drosophila* GABA ergic systems: Sequence and expression of glutamic acid decarboxylase. J. Neurochem. 1990, **54**: 1068—1078.
26 Sattelle, D B, Miller K. W P, Bai D, et al. GABA receptor diversity in insects. In: Abstr. Second Int. Symp. Mol. Insect Sci. 1993, 142.
27 Henderson J F, Soderlund D M, Knipple D C. Characterization of a pupative GABA receptor β subunit gene from *Drosophila melanogaster*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1993, **193**: 472—482.
28 Soderlund D M, Henderson, J E, Knipple D C. PCR-based homology probing reveals a family of GABA receptor-like genes in *Drosophila melanogaster*. In: Abstr. Second Int. Symp. Mol. Insect Sci. 1993, 155
29 Witz, P, Amlaiky, N, Plassat, J. L. *et al*. Cloning and characterization of a *Drosophila* serotonin receptor that activates adenylate cyclase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1990, **87**: 8940—8944.
30 Sandon F, *et al*. A family of *Drosophila* serotonin receptors with distinct intracellular signalling properties. EMBO J. 1992, **11**: 7—17.
31 Salkoff L, Butler, A, Wei, A, *et al*. Genomic organization and deduced amino acid sequence of a putative sodium channel gene in *Drosophila*. Science 1987, **237**: 744—749.
32 Ramaswami M, Tanouye M A, Two sodium channel genes in *Drosophila*: Implications for channel diversity Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1989, **86**: 2079—2082.
33 Ganetzky, B, Wu, C F. Neurogenetics of membrane excitability in *Drosophila*. Ann. Rev. Genet. 1986, **20**: 13—44.
34 Loughney K, Kreber R, Ganetzky B. Molecular analysis of the *para* locus, a sodium channel gene in *Drosophila*. Cell 1989, **58**: 1143—1154.
35 Knipple D C, Payne L L, Soderlund D M. PCR-generated conspecific sodium channel gene probe for the house fly. Arch. Insect Biochem. Physiol. 1991, **16**: 45—53.
36 Doyle K E, Knipple D C. PCR-based phylogenetic walking: Isolation of *para*-homologous sodium channel gene sequcnees from seven insect species and an arachnid. Insect Biochem. 1991, **21**: 689—696.
37 Pauron D, Castells N, Castella C, *et al*. Transcription analysis of a voltage-sensitave sodium channel gene by *in situ* hybridization and immunological characterization of its expression product in *Musca domestica*. In: Abstr. Second Int. Symp. Mol. Insect Sci. 1993, 124.
38 Tanouye M A, Kamb C A, Iverson L E, *et al*. Genetics and molecular biology of ionic channels in *Drosophila*. Ann. Rev. Neurosci. 1986, **9**: 255—276.
39 Kamb A, Iverson L E, Tanouye M A. Molecular characterization of *Shaker*, a *Drosophila* gene that encodes a potassium channel. Cell 1987, **50**: 405—413.
40 Papazian D M, Schwarz T L, Tempel B L, *et al*. Cloning of genomic and complementary DNA from Shaker, a putative potassium channel gene from *Drosophila*. Science 1987, **237**: 749—53.
41 Tempel B L, Papazian D M, Schhhwarz T L, *et al*. Sequence of a probable potassium channel component encoded at Shaker locus of *Drosophila*, Science 1987, **237**: 770—775.
42 Schwartz T L, Tempel B L, Papazian D M, *et al*. Multiple potassium-channel components are produced by alternative splicing at the *Shaker* locus in *Drosophila*. Nature 1988, **331**: 137—142.
43 Kamb A, Tseng-Crank J, Tanouye, M A. Multiple products of the *Drosophila Shaker* gene may contribute to potassium channel diversity. Neuron 1988, **1**: 421—430.
44 Sutcliff J G, Milner R J. Alternative mRNA splicing: the *Shaker* gene. Trends Genet. 1988, **4**: 297—299.
45 Timpe L C, Schwarz T L, Tempel B L, *et al* Expression of functional potassium channels from *Shaker* cDNA in *Xenopus* oocytes. Nature 1988, **331**: 143—145.
46 Iverson L E, Tanouye M A, Lester H A, *et al*. A-type potassium channels expressed from *Shaker* locus cDNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1988, **85**: 5723—5727.
47 Timpe L C, Jan Y N, Jan L Y. Four cDNA clones from the *Shaker* locus of *Drosophila* induee kinctically distinet A-typic potassium channels in *Xenopus* oocytes. Neuron 1988, **1**: 659—667.
48 Butler, A, Wei A, Baker K, *et al*. A family of putative potassium channel genes in *Drosophila*. Science 1989, **243**: 943—947.
49 Bufler A, *et al*. Shal, Shab, and Shaw: three genes encoding K+ channels in *Drosophila*. Nucleic Acids Res. 1990, **18**: 2173—2174.
50 Klaibel K, *et al*. 1990 Functional expression of *Shaker* potassium channels in a baculovirus-infe-

cted cell line. Neuron. 5: 221—226.
51 Dryadale R, Warmke J, Kreber R, *et al*. Molecular characterization of *eag*: A gene affecting potassium channels in *Drosophila melanogaster*. Genetics 1991, 127: 497—505.
52 Warmke J, Dryadale R, Ganetzky B. A distinct potassium channel polypeptide encoded by the *Drosophila eag* locus. Science 1991, 252: 1560—1562.
53 Zhong Y, Wu C-F. Alternation of four identical K+ currents in *Drosophila* muscle by mutations in *eag*. Science 1991, 252: 1562—1564.

SOME ASPECTS OF PROGRESS IN INSECT MOLECULAR BIOLOGY: NEUROTRANSMITTERS AND ION CHANNELS

Zhai Qihui
(*Institute of Zoology, Academia Sinica Beijing* 100080)

Abstract This paper is the third part of a review on recent progress in insect molecular biology. It surveys recent information on insect genes related to neurotransmitters and ion channels. Because neurotransmitters and ion channels play key roles in the transmission of chemical and electrical signals in insect nervous system, one of the major goals of insect neurobiology has been to study genes related to the structure, metabolism and function of neurotransmitters and ion channels. Some of the insect neurotransmitters and ion channels are targets of insecticide action, and the study on the neurotransmitter-related genes and ion channel genes is also a prerequisite for investigating resistance genes.

The present article summarizes information on the genes involved in the cholinergic system (ChAT, AchE and AchR), GABAergic system (GAD and GABA receptor) and biogenic amine (serotonin receptor). For the ion channels, molecular aspects of the two major voltage-gated ion channels——sodium and potassium channel genes are reviewed.

Key words inseet molecular biology, neurotransmitters, ion channels